

正常及びフィラリア感染コトンラットの 腔垢像による性周期の観察

酒井 健夫 小林 準三

東京大学医科学研究所寄生虫研究部 (部長 佐々 学教授)

(1967年 5月31日受領)

緒 論

コトンラット *Sigmodon hispidus hispidus* は北米南部の湿地帯にひろく野生しているケツン類 Rodentia, ネズミ亜目 Myomorpha, キヌゲネズミ科 Cricetidae に属する動物である。Armstrong & Surgeon (1939) は灰白髄炎ウイルスの感染実験にこれを実験動物として使用した。その後ウイルス感染病や原虫類の研究にも用いられてきた (Fulton & Joyner 1948; Fulton, Joyner & Chandler 1950; Fulton & Niven 1951 等)。特にコトンラット糸状虫 *Litomosoides carinii* の宿主として、実験フィラリア症の研究に注目をあび研究がなされている。

わが国においてコトンラットは1951年に武田薬品工業株式会社に輸入され、それを東大伝研獣疫研究部が入手し、繁殖保持していたものを当研究部が譲りうけ累代飼育している。実験動物としてのコトンラットの性周期に関する観察はわずかで、しかもそれらは Meyer & Meyer (1944 a, b), Meyer & Marsh (1943) が観察した野生状態下と実験室内飼育初期の報告である。又我が国においてははまだ報告されていない。

そこで著者らは実験動物としてのコトンラットの当研究部の飼育室における、腔垢像による性周期の状態を知り、繁殖及び飼育管理の改善をはかる目的で行った。又、コトンラットのフィラリア感染による病害作用については報告があるが (若杉 1955, 1958; 佐藤 1959, 1960; 田中 1964; 神田・田坂 1966), これに伴う宿主の生理に関する変化については報告がない。今回は正常および *Litomosoides carinii* 感染コトンラットの腔垢像による性周期の変動を観察したので報告する。

実験材料及び方法

供試動物

正常コトンラットは生後 8 週令、体重約 100 グラムのものを用いた。*Litomosoides carinii* 感染コトンラットは生後 4 週で感染させ、感染後 8 週目から実験に使用した。飼育状態

コトンラットは音に対して敏感な為に室内を極力静かにした。温度 24~28°C, 湿度 40~70% 下で飼育し、照明は室内燈を午前 9 時から午後 6 時まで一定時間照射した。なお観察に用いたコトンラットの飼育ケージは個別型を用い、1 室 1 頭とした。

観察法

腔垢は 1 日 1 回定時に採取し、結果の判定は安東、田嶋 (1956) 等に従い出現細胞像の割合により 5 期法を用いた。I 期 (発情前期) は有核上皮細胞が主、II 期 (発情盛期) は有核細胞も含む角化上皮細胞、III 期 (発情後期) は角化上皮細胞を主、IV 期 (移行期) は有核上皮細胞に白血球と角化細胞が散在して出現、V 期 (静止期) は白血球、少数の有核細胞等である。これを判定基準にして鑑別した。表現最小単位は 0.5 日とした。又、6 時間間隔で正常コトンラットの各期持続時間を観察した。

実験結果

1. 正常群の性周期について

いまだ判定基準となる細胞像の割合がきめられていないので、著者らの観察成績を紹介すると白血球、有核上皮細胞及び角化上皮細胞の割合の平均はそれぞれ I 期 1.46, 92.39, 6.15%, II 期 2.15, 61.95, 35.90%, III 期 1.97, 5.43, 92.60%, IV 期 11.94, 74.55, 13.51%, V 期 97.88, 2.00, 0.12% である。

正常コトンラットについての観察周期数は各個体それぞれ 9, 14, 6, 5, 6 周期である (第 1 表)。各々の平均周期持続日数は 6.7, 4.3, 5.3, 6.6, 5.3 日で、平均 5.64 日である。又、最長は 8.0 日、最短は 3.0 日である。

各期の平均持続日数は I 期 0.86 日、II 期 0.82 日、III 期

第1表 正常群における周期持続日数及び各期平均持続日数の個体間の変異

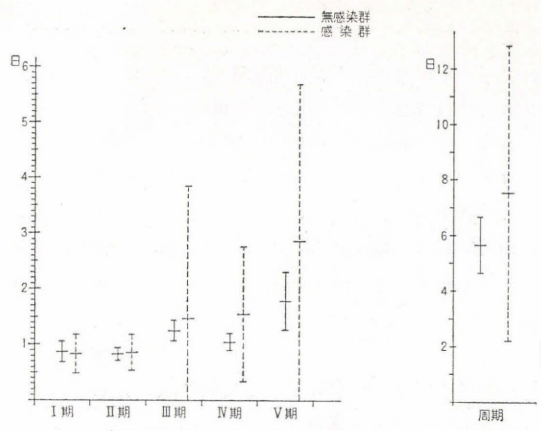
コトノラット	観察周期			各期平均持続日数					周期持続日数		
				I期	II期	III期	IV期	V期	平均	最長	最短
1			9	1.0	1.0	1.2	1.3	2.3	6.7	8.0	5.5
2			14	0.6	0.8	1.0	1.0	1.0	4.3	6.5	3.5
3			6	0.8	0.8	1.2	0.9	1.8	5.3	6.5	3.0
4			5	1.1	0.8	1.5	1.0	2.2	6.6	8.0	5.0
5			6	0.8	0.7	1.3	1.0	1.6	5.3	8.0	4.0
平			均	0.86	0.82	1.24	1.04	1.78	5.64	—	—
標			差	0.19	0.11	0.18	0.15	0.52	1.01	—	—
変	準	偏	数	22.66	12.79	14.65	14.59	29.30	17.91	—	—

第2表 感染群における周期持続日数及び各期平均持続日数の個体間の変異

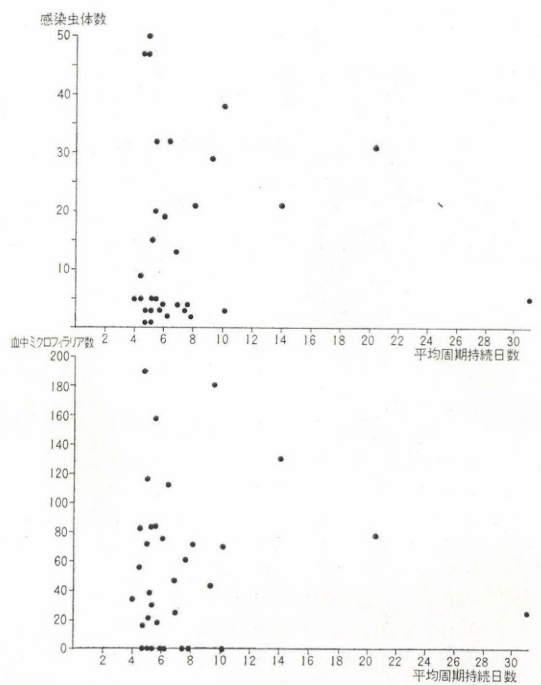
コトノラット	感染虫体数			血中マイクロフィラリア数		観察周期	各期平均持続日数					周期持続日数		
	合計	♂	♀	感染後8週	感染後12~13週		I期	II期	III期	IV期	V期	平均	最長	最短
1	50	17	33	117	411	3	0.5	0.5	1.3	1.5	1.2	5.0	5.0	5.0
2	47	16	31	190	337	4	0.5	1.3	1.0	0.8	1.1	4.7	7.0	3.0
3	47	11	36	72	573	3	1.2	0.5	0.5	0.8	1.8	4.9	7.0	4.0
4	38	22	16	70	474	2	0.8	1.0	2.5	4.0	1.8	10.1	14.5	5.5
5	32	15	17	113	182	3	1.0	1.5	0.8	1.3	1.8	6.4	9.5	4.5
6	32	13	19	158	881	3	0.7	0.8	0.8	1.0	2.2	5.5	6.5	4.0
7	31	15	16	78	304	1	1.0	1.0	1.0	1.0	16.5	20.5	20.5	20.5
8	29	16	13	43	258	2	0.8	1.5	1.0	1.0	5.0	9.3	13.0	5.5
9	21	4	17	131	789	1	1.0	1.0	5.0	5.0	2.0	14.0	14.0	14.0
10	21	7	14	72	399	2	1.0	0.8	0.5	3.3	2.5	8.1	10.0	6.0
11	20	7	13	84	332	3	0.5	0.7	0.7	0.8	2.7	5.4	8.0	4.0
12	19	10	9	76	552	5	0.9	0.8	0.9	1.4	2.0	6.0	8.0	4.0
13	15	6	9	84	370	3	0.5	1.2	0.7	1.0	1.8	5.2	5.5	5.0
14	13	6	7	47	604	5	1.6	0.6	1.5	1.5	1.6	6.8	13.0	2.5
15	9	3	6	56	531	8	0.7	0.9	0.6	0.8	1.4	4.4	5.0	3.5
16	5	1	4	25	382	1	2.0	1.5	14.0	5.5	8.0	31.0	31.0	31.0
17	5	1	4	83	329	7	0.6	0.6	0.5	1.1	1.6	4.4	7.0	4.0
18	5	1	4	30	430	6	0.6	0.5	0.8	0.8	2.6	5.3	6.0	4.5
19	5	3	2	0	0	5	0.6	0.6	1.0	1.0	2.0	5.2	6.0	5.0
20	5	1	4	34	68	4	0.6	0.5	0.9	1.0	1.0	4.0	4.0	4.0
21	4	2	2	0	0	6	0.8	0.6	1.7	0.8	2.0	5.9	9.0	3.0
22	4	2	2	61	534	5	0.5	0.6	1.0	1.4	4.1	7.6	8.5	6.5
23	4	1	3	25	14	4	0.8	0.9	1.3	1.8	2.1	6.9	9.0	6.0
24	3	2	1	21	92	7	0.9	0.8	0.6	0.8	1.4	5.1	6.0	4.0
25	3	1	2	18	84	2	0.8	1.3	0.8	1.0	1.8	5.7	6.5	4.5
26	3	2	1	0	0	5	1.0	1.0	0.8	1.0	3.6	7.4	10.5	4.5
27	3	1	2	39	288	7	0.7	0.7	0.7	1.0	2.0	5.1	6.0	4.0
28	3	1	2	0	0	3	1.5	1.0	0.8	1.0	5.8	10.1	12.5	8.5
29	3	1	2	16	162	5	0.6	0.5	0.7	1.3	1.6	4.7	5.0	4.0
30	2	1	1	0	1	5	0.8	0.6	0.7	1.2	2.9	6.2	8.0	5.0
31	2	1	1	0	2	4	0.6	0.8	1.0	3.0	2.4	7.8	11.0	5.0
32	1	0	1	0	0	5	0.6	0.6	0.9	1.0	2.0	5.1	7.0	4.0
33	1	1	0	0	0	6	0.6	0.7	0.7	0.9	1.8	4.7	5.0	4.0
平							0.83	0.85	1.45	1.54	2.85	7.53	—	—
標							0.35	0.31	2.39	1.21	2.84	5.31	—	—
変	準	偏	均	差	係	数	42.17	36.47	164.83	78.57	99.65	70.52	—	—

1.24日, IV期1.04日, V期1.78日である. 標準偏差はI期0.19, II期0.11, III期0.18, IV期0.15, V期0.52でV期においてわずかに差が認められた. 変異係数はI期22.

66, II期12.79, III期14.65, IV期14.59, V期29.30で, I期, V期において他の期よりわずかに差が認められるが, 周期全体として差は大きくない(第1表).



第1図 無感染群及び感染群における各持続日数と周期持続日数の比較



第2図 感染群における感染虫体数及び感染8週後の血中マイクロフィラリア数と平均周期持続日数の関係

各個体においてI期は0.5~1.5日に分散するが、大部分は0.5, 1.0日である。II期もI期とほぼ同様である。III期はわずかに分散が広がり0.5~3.0日であるが、これも大部分は1.0日に集中している。IV期は0.5~1.5日に分散し、大部分は1.0日である。しかしV期は0.5

第3表 感染群および無感染群における感染虫体数及び血中マイクロフィラリア濃度による平均周期持続日数の変異の比較

感染虫体数	観察頭数	平均周期持続日数			延長率
		正 (4~8日)	常 延 (8日以上)	長	
31以上	7	5	2	28.6%	
30~11	7	4	3	42.9	
11~4	9	8	1	11.1	
3~1	10	9	1	10.0	
無感染群	5	5	0	0	

血中マイクロフィラリア数	観察頭数	平均周期持続日数			延長率
		正 (4~8日)	常 延 (8日以上)	長	
10.0025ml 101以上	5	4	1	20.0%	
100~31	14	10	4	28.6	
30~1	6	5	1	16.7	
0	8	7	1	12.5	
無感染群	5	5	0	0	

~3.0日と全体に分散している。
各期持続時間の個体間の変異は、3例について6時間間隔で観察した。その平均はI期14.47, II期13.13, III期19.70, IV期23.77, V期50.00時間であり、1周期は約121.10時間である。

2. フィラリア感染群の性周期について
周期持続日数は平均7.53日で正常群と差があり、しかも最長31.0日、最短2.5日と非常に分散が大きい。又、同一個体においても不規則に周期をいとなみ、周期間の差が大である(第2表)。

各期の平均持続日数はI期0.83日, II期0.85日, III期1.45日, IV期1.54日, V期2.85日である。正常群とはV期でかなりの差が認められるが、I期, II期ではほとんど差がない。しかし標準偏差はI期0.35, II期0.31, III期2.39, IV期1.21, V期2.84と正常群に比較して差が大きく、周期全体としても5.32とかなり差がある。さらに変異係数もI期42.17, II期36.47, III期164.83, IV期78.57, V期99.65と差が大きい。

各個体における各期の長さは、分散が全般に正常より大きく、不規則に延びる傾向にある(第1図)。I期は0~3.0日で、0.5, 1.0日に集中し、II期も0~3.0日で、0.5, 1.0日に集中し、正常群にくらべ大きい差は認められない。しかしIII, IV, V期ではかなり差が認められる。III期は0.5, 1.0日に集中しているが、0~6.0日と分散が大きく、一例ではあるが14.0日間持続した。IV期は1.0日に集中し、0~7.0日と分散が大きく、V期も1.0~3.0

日に集中し、分散は0~9.0日と非常に大きく、16.5日間持続したものもある。

なお感染群における性周期の変動と血中のミクロフィラリア濃度及び感染虫体数との間には必ずしも平行した関係は認められない(第2図)。しかし平均周期持続日数の延長率は感染虫体31匹以上群で28.6%、30~11匹群42.9%、11~4匹群11.1%、3~1匹群10.0%である。又、血中ミクロフィラリア数 101/0.0025 ml 以上群は20.0%、100~31/0.0025 ml 群は28.6%、30~1/0.0025 ml 群は16.7%、0/0.0025 ml 群は12.5%である(第3表)。

考 察

各期における出現細胞像の状態については Meyer & Meyer (1944 b) の報告があるが、今回の成績もこれとほぼ同じである。Meyer & Marsh (1943) は実験室内で飼育した正常コトナットの平均周期日数について観察し、その平均は5.7日であるが、4~8日まで変化し一定でないといっている。著者の得た正常群の結果はこれとほぼ一致した。

Meyer & Meyer (1944 b) は野生コトナットを捕獲して観察した。一群45匹の平均周期は5.6日であるが4~20日に分布し、二群12匹は4~12日に分布し、平均周期は7.0日である。又、かなりのものに無発情と長期間持続発情を示すものがあり、たとえば発情期は平均3.4日であるが、1~12日に分散する。さらに発情静止期(発情前期、発情後期を含む)は平均5.6日で2~12日間に分散するといっている。著者が実験に用いた正常群は、これらの野生群よりはるかに一定かつ規則的に周期をいとなんでいる。なお当飼育室におけるコトナットの飼育状態はこの意味で適当と思われる。

フィラリア感染コトナットの性周期の変動と血中ミクロフィラリア濃度及び感染虫体数との間には必ずしも平行関係はみられなかつた。しかし全般的にみて周期及び各期の長さが延長するものは、濃厚感染群に多い傾向があつた。この場合特にⅢ、Ⅳ、Ⅴ期の持続日数はかなり延び、不規則に周期をいとなんでいる。すなわち周期持続2.5~31.0日、発情期0~14.0日、発情休止期0~16.5日であり、野生コトナットの変動の著しい期と類似している。

要 約

1. 当研究部において累代飼育しているコトナットの正常群とフィラリア感染群の陰垢像による性周期の比

較を行つた。

2. 正常コトナットの性周期は最長8.0日、最短3.0日で平均5.64日であり、Ⅰ期0.5~1.5日(平均0.86日)、Ⅱ期0.5~1.5日(平均0.82日)、Ⅲ期0.5~3.0日(平均1.24日)、Ⅳ期0.5~1.5日(平均1.04日)、Ⅴ期0.5~3.0日(平均1.78日)であつた。

3. 感染コトナットの性周期は非常に変動が大きく、平均7.53日であるが2.5~31.0日と分散が大きく、全体に延びる傾向にある。Ⅰ期0~3.0日(平均0.83日)、Ⅱ期0~3.0日(平均0.85日)、Ⅲ期0~14.0日(平均1.45日)、Ⅳ期0~7.0日(平均1.54日)、Ⅴ期0~16.5日(平均2.85日)である。全般的にみて周期及び各期の長さが延長するものは濃厚感染群に多い傾向があつた。この場合特にⅢ、Ⅳ、Ⅴ期の変動は著しく、周期も著しく不規則であつた。

筆をおくにあたり、御指導及び御校閲賜わつた当研究部長佐々木教授、田中寛助教授、当研究所実験動物研究施設鈴木潔博士、奥木実博士、日本大学武石昌敬講師、当研究部神田鍊蔵博士、池田司敏明博士ほか寄生虫研究部の諸氏に感謝の意を表する。

この報告の一部は昭和41年度東京獣医畜産学会(1966)及び第36回日本寄生虫学会(1967)で発表した。

文 献

- 1) 安東洪次・田嶋嘉雄(1956): 動物実験法。朝倉書店、東京。
- 2) Armstrong, C. and Surgeon, S. (1939): The experimental transmission of poliomyelitis to the eastern cotton rat, *Sigmodon hispidus hispidus*. Publ. Hlth. Rep., 54, 1719-1721.
- 3) Fulton, J. D. and Joyner, L. P. (1948): Infections by *Leishmania donovani* in the cotton rat. J. Gen. Microbiol., 2, 103-109.
- 4) Fulton, J. D., Joyner, L. P. and Chandler, R. L. (1950): Studies on protozoa. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 44, 105-112.
- 5) Fulton, J. D. and Janet Niven, S. F. (1951): Studies on protozoa. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 44, 717-728.
- 6) 神田鍊蔵・田坂定晴(1966): *Litomosoides carinii* の定量的接種法によるコトナットの発症経過の観察。寄生虫誌, 15, 138-147.
- 7) Meyer, B. J. & Meyer, P. K. (1944 a): The effect of light on maturation and the estrus cycle of the cotton rat, *Sigmodon hispidus*

- hispidus*. Endocrinology, 34, 276-281.
- 8) Meyer, B. J. & Meyer, R. K. (1944 b): Growth and reproduction of the cotton rat, *Sigmodon hispidus hispidus*, under laboratory conditions. J. Mammal., 25, 109-129.
- 9) Meyer, D. B. & Marsh, M. (1943): Development and management of a cotton rat colony. Amer. J. Public Health., 33, 697-700.
- 10) 佐藤孝慈(1959): Cotton rat を用いた糸状虫症化学療法の実験的研究. (1) スパトニン及びマフアルゾールの流血中ミクロフィラリア数に及ぼす影響. 寄生虫誌, 8, 962-971.
- 11) 佐藤孝慈(1960): Cotton rat を用いた糸状虫症化学療法の実験的研究. (2) スパトニン及びマフアルゾールの成虫に及ぼす影響. 寄生虫誌, 9, 22-31.
- 12) 田中英文(1944): フィラリア実験動物としての Cotton rat に関する研究. (2) *Litomosoides carinii* の感染経過について. 寄生虫学雑誌, 13, 507-513.
- 13) 若杉幹太郎(1955): コトラット糸状虫 *Litomosoides carinii* に関する研究. 第1報実験室内に於ける累代感染法について. 寄生虫誌, 4, 375-379.
- 14) 若杉幹太郎(1958): コトラット糸状虫 *Litomosoides carinii* に関する研究. 第2報糸状虫感染コトラットの感染経過及び病変について. 寄生虫誌, 7, 78-13.

AbstractOBSERVATION ON SEX CYCLE OF NORMAL AND *FILARIA*-INFECTED
COTTON RATS BY VAGINAL SMEAR METHOD

TAKEO SAKAI & JUNZO KOBAYASHI

*(Department of Parasitology, The Institute for Medical Science,
The University of Tokyo, Tokyo, Japan)*

Comparative studies were made on the sex cycle of normal cotton rats and of those infected with the cotton rat filaria, *Litomosoides carinii*, by daily examinations of their vaginal smears. The cycle was classified into five stages according to the composition of cells in the smears, and the periods in days required for each stage as well as for a complete cycle were recorded.

The normal cotton rats bred in our laboratory showed fairly constant results, and the days required for a complete cycle ranged from 3.0 to 8.0 days, with the average of 5.64 days. Minimum, maximum and average days of each stage were 0.5, 1.5 and 0.86 in the I stage, 0.5, 1.5 and 0.82 in the II stage, 0.5, 3.0 and 1.24 in the III stage, 0.5, 1.5 and 1.04 in the IV stage and 0.5, 3.0 and 1.78 in the V stage respectively.

The sex cycle of the filaria-infected group showed remarkable variations among the individuals as well as within the same individuals according to the cycles. The days required for a cycle varied from 2.5 to 31.0, with an average of 7.53, and the periods observed for each stage were 0 to 3.0 (average 0.83) in stage I, 0 to 3.0 (average 0.85) in stage II, 0 to 14.0 (average 1.45) in stage III, 0 to 7.0 (average 1.54) in stage IV, and 0 to 16.5 (average 2.85) in stage V. Especially remarkable were the variations seen in the stages III, IV and V.

The abnormally long and irregular sex cycles seen in some of the infected rats are considered to have been caused by some effects of the parasite on the hormonal system of the hosts, and further analytical studies are in progress. Although there were no direct relationship between the parasite load (number of adult worms per host, or microfilarial density in the blood) and the length of sex cycle, the rate of animals with abnormally long sex cycles were higher among the groups with larger numbers of the parasite.